

**NACHWEIS VON
LÖSLICHEN FIBRINMONOMERKOMPLEXEN
IM PLASMA VON PATIENTINNEN
MIT GYNÄKOLOGISCHEN TUMOREN**

Eine klinisch-experimentelle Untersuchung

Manfred Baumgärtner
—

1976
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555611_0086

Aus der I. Frauenklinik und Hebammenschule
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. J. Zander

NACHWEIS VON LÖSLICHEN FIBRINMONOMERKOMPLEXEN IM PLASMA
VON PATIENTINNEN MIT GYNÄKOLOGISCHEN TUMOREN

Eine klinisch-experimentelle Untersuchung

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Manfred Baumgärtner
aus
Nördlingen

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter:

I. Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Graeff

II. Mitberichterstatter: Prof. Dr. J. Zander

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 26.10.1976



Meinen Eltern und meiner Frau

in Dankbarkeit gewidmet

Meinen Eltern und meiner Frau

in Dankbarkeit gewidmet

I N H A L T

A	Einleitung	1
B	Material und Methoden	4
	a) Patienten	4
	b) Statistische Methode	5
	c) Äthanol-Test	5
	d) β -Alanin-Fällung	6
	e) Agarose-Gel-Filtration	7
	f) Polyacrylamid-(PAA)-Gel-Elektrophorese	7
	g) Intragel-Immunpräzipitation	7
	h) Hämatokritbestimmung	8
	i) Blutkörperchensenkungsreaktion (BKS)	8
	j) Thrombozytenzählung	8
C	Fragestellung	9
D	Ergebnisse	9
	a) Überblick über die bei den Patienten erhobenen Befunde	9
	b) Befund bei Patientinnen mit einem positiven und einem negativen Äthanoltest	10
	c) Verlaufsbeobachtungen und klinische Schlußfolgerungen	12
E	Diskussion	13
F	Zusammenfassung	15
G	Literatur	16

A Einleitung

1. Karzinom und Thrombose

Die Karzinomkrankheit ist unter anderem gekennzeichnet durch eine Disposition zur Thrombose. Die sogenannte Thrombophlebitis migrans kann nicht selten als Frühsymptom eines Karzinoms gelten. Die Diagnose einer sogenannten idiopathischen Thrombophlebitis ist heute ein Grund zur intensiven Tumorsuche (MARX 1968 (27)) die bis hin zur Probelaaparotomie (16) führen kann. Disseminierte Karzinome sind besonders häufig vergesellschaftet mit Makro- oder Mikrothrombosen. Eine systematische Untersuchung des Sektionsgutes des Pathologischen Institutes der Universität München ergab, daß bei Karzinompatienten in 49% pathologisch-anatomisch nachweisbare Thrombosen vorliegen (zitiert in 27).

Bestätigt wurde dieser Befund auch von Sektionsprotokollen der Universität Basel, die eine Häufigkeit von 41,8% arterieller und venöser Thrombosen bei Tumorkranken angeben (38). Für Uteruskarzinome war die Häufigkeit der autopsisch gesicherten Thrombosen sogar 55,3% (n = 80).

Hierbei wurden lediglich venöse und arterielle Makrothrombosen berücksichtigt, Veränderungen im Sinne der disseminierten intravaskulären Gerinnung (DiG) wurden nicht bewertet. Demgegenüber steht die Häufigkeit der mit einfachen klinischen Methoden erfassbaren Thrombosen, die bei "Patientinnen mit Karzinomen bzw. Kachexie" mit 4,3% angegeben wird. Diese Angaben beziehen sich auf Patienten der inneren Medizin (20).

Neuere Untersuchungen mit markiertem Fibrinogen haben erkennen lassen, daß die tatsächliche Frequenz der intra vitam entstandenen Thrombosen zwischen den beiden Extremen, nämlich der bei der Sektion entdeckten Thrombose und der klinisch manifestierten, liegt (5).

Der pathologische Mechanismus der Thromboseentstehung läßt sich auch heute noch im Prinzip mit der Konstellation der Virchowschen Trias erklären. Einschränkend hierzu ist zu sagen, daß die 3 von Virchow definierten, für die Thromboseentstehung maßgeblichen Faktoren (Gefäßwand-, Blutfluß-, Gefäßinhaltsveränderung) für die

einzelnen Thrombosetypen (Mikrothrombosen, arterielle und venöse Makrothrombosen) unterschiedliche Bedeutung haben (3').

Im Zusammenhang der vorliegenden Studie erschien es interessant, die enzymatische Gerinnungsaktivität im Hinblick auf das Problem der Thrombose bei gynäkologischen Tumoren, insbesondere bei Kol- lum- und Korpuskarzinomen, zu diskutieren.

Das Gefäßsystem im Tumor bietet in der Vielzahl der Fälle die Bedingungen für eine Hypozirkulation. Zur Gefäßwandveränderung und Blutflußbeeinträchtigung kommt es im Tumor selbst, besonders bei nekrotischen und entzündlichen Vorgängen jedoch auch in der Nachbarschaft, wenn der Tumor einen anatomisch faßbaren Kontakt mit den großen Beckenvenen aufweist.

Karzinome entlassen in Abhängigkeit von ihrer Größe laufend Zellen in die Zirkulation des sie umgebenden Blutes (8, 17, 29, 34).

Diese Tumorzellen besitzen eine ihnen eigentümliche Klebrigkeit. Sie haften leicht am Endothel (GASTPAR et al bewies dies im Tierversuch 1961 mittels Intravitalmikroskopie direkt (9)) und bilden den Kristallisationspunkt eines Mikrogerinnsels, das sich rasch bildet. WOOD (41) konnte 1964 mittels Markierung mit U¹³³ nachweisen, daß diese verstärkte Klebrigkeit ("stickiness") auf eine dünne Fibrinschicht um die Tumorzelle zurückzuführen ist.

O'MEARA (30) erkannte 1964 eine Korrelation zwischen dieser Klebrigkeit und der Wirkung von thromboplastischer Aktivität. Er zog den Schluß daraus, daß ein krebsspezifischer, thromboplastinähnlicher, gerinnungsfördernder Faktor (CCF = Cancer Coagulative Factor) vorhanden sei.

MARX (27) diskutierte dies als eine Thromboplastin-Mikro-Intoxikation, deren Folge zunächst eine erhöhte Gerinnbarkeit des Gefäßinhaltes mit Ablagerung von Fibrin im Tumor ist.

Der Verbrauch des Fibrinogens bedingt eine erhöhte Produktion dieses (CCF) Faktors (17, 25, 31, 33). Diese führt nun neben einer Viskositätszunahme und verstärkter Plättchenadhäsivität (4, 27) zu einer gesteigerten Aktivität anderer Gerinnungsfaktoren.

Die Anwesenheit des gerinnungsfördernden Faktors CCF im Zusammenhang mit einem gesteigerten Umsatz des Fibrinogens beinhaltet das

Prinzip der Hyperkoagulabilität beim Tumorkranken.

Die Entstehung der Thrombose wird außerdem durch Verminderung der fibrinolytischen Aktivität, wie sie beim Tumorkranken beobachtet wird, begünstigt (34).

WESSLER (von 40 zitiert) definiert diesen Zustand der Hyperkoagulabilität in einer Arbeitshypothese als "an altered state of circulating blood that requires a smaller quantity of a clot initiating substance to induce intravascular coagulation than is required to produce comparable thrombosis in a normal subject".

Es zeigte sich, daß der Nachweis der zirkulierenden thrombininduzierten Umsatzprodukte des Fibrinogens, sogenannte lösliche Fibrinmonomerkomplexe (LFMK) ein brauchbares Maß für die Hyperkoagulabilität ist. Diese LFMK entstehen am Ende des enzymatischen Gerinnungsablaufes als Folge einer proteolytischen Spaltung des Thrombins am Fibrinogen. Hierbei tritt nach Abspaltung der Fibrinopeptide A und B vom Fibrinogen eine Ladungsänderung auf, die eine Komplexbildung von Fibrin und Fibrinogenmolekülen bedingt. Solche Komplexe können als Di, Tri oder Polymere vorliegen.

Sie haben alle ein höheres MW als Fibrinogen. Aufgrund ihres höheren Molekulargewichtes werden sie durch ein Molekularsiebverfahren vom Fibrinogen getrennt und diesem prozentual zugeordnet (FLETCHER, VERMYLEN, GRAEFF zit. in 15).

Thrombininduzierte Umsatzprodukte können auch durch Parakoagulationsteste (Äthanol-Test (10, 11) und Protaminsulfat-Test (33)), durch den Nachweis von N-terminalen Glycin (1) und durch einen Radioimmunoassay der Fibrinopeptide A (32) erfaßt werden.

Die vorliegende Untersuchung befaßt sich mit dem Nachweis der Hyperkoagulabilität durch LFMK bei Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren und mit den damit in Zusammenhang stehenden klinischen Befunden.

B Material und Methoden

a) Patienten

In der I. Univ. Frauenklinik München wurden 52 Patienten mit malignen Tumoren untersucht. Bei 25 (48%) dieser Gruppe bestand ein Kolonkarzinom der Gruppe II - III, bei weiteren 25 (48%) ein fortgeschrittenes Korpuskarzinom. 2 (3,8%) Patientinnen litten an einem Ovarialkarzinom. Alle Tumoren waren histologisch bestätigt. Die älteste Patientin war 81, die jüngste 36 Jahre (Mittelwert 61) alt.

Die Behandlung erfolgte mit lokaler Applikation von Radium, perkutaner Telekobaltbestrahlung und Gaben von zytostatischen Substanzen.

(Ausgenommen wurden Pat. unter Antikoagulantienbehandlung).

Wurden kurzfristig Antikoagulantien eingesetzt, so wurden die Untersuchungen nach Abklingen der Medikamentenwirkung durchgeführt.

Die Untersuchungen erfolgten vor Beginn der Therapie, nach Ablauf der Hälfte und nach 2/3 der Beobachtungs- bzw. Behandlungszeit sowie zum Zeitpunkt der Entlassung und 6 Wochen nach der Entlassung aus der Klinik.

Sammeln der Proben:

9 ml Blut wurden vom Untersucher aus der Cubitalvene mit Einmalkannülen Nr. 1 und Einmalspritzen in 1 ml Antikoagulanzlösung (Na-Citrat 3,8 g; TES 1,38 g; 100.000 K I U Trasylol^R ad 100 ml, pH 7,5) unter gleichmäßiger Aspiration abgenommen. Die ersten freiabfließenden Milliliter wurden verworfen. Die Proben wurden unverzüglich verarbeitet.

Zur HK-Bestimmung und Thrombozytenzählung wurden entsprechende Mengen entnommen bevor das Blut in einer Kühlzentrifuge bei 4°C - 20 Minuten mit 1200 g zentrifugiert wurde.

Danach wurde das auf diese Weise so gewonnene plättchenarme Plasma abgehebert und damit der Äthanoltest durchgeführt. Die Proben wurden bei -25°C nicht länger als 14 Tage aufbewahrt.

b) Statistische Methode

Zur statistischen Überprüfung ob ein Zusammenhang zwischen der Prognose "klinisch günstig" und einem negativen Godal-Test bzw. der Prognose "klinisch ungünstig" und einem positiven Godaltest besteht, wurde der Vierfelder - χ^2 -Test angewandt. Da Grundwahrscheinlichkeiten von Binominalverteilungen verglichen werden, wurde als Nullhypothese formuliert: Beide Stichproben entstammen der gleichen Grundgemeinsamkeit. Aufgrund der Problemstellung konnte von einer einseitigen Fragestellung ausgegangen werden.

c) Äthanol-Test ((11) und (10)) modifiziert nach GODAL und ABILDGAARD

Material und Reagenzien:

Äthanol-TES-Pufferlösung (pH 7,8; Ionenstärke = 0,06 zu 350 ml destillierten Wassers werden 13,7 g TES (N-Tris-[Hydroxy-Methyl]-Methyl-2-Amino-Methan-Sulfid), Molekulargewicht 229,24) gegeben. Mit 1/10 NaOH-Lösung wird ein pH-Wert von 7,8 eingestellt und mit destilliertem Wasser bis 500 ml aufgefüllt. Anschließend werden 500 ml Äthanol zugegeben.

Zu 1 ml plättchenarmen Plasma werden jeweils 0,3 ml Äthanol-TES-Puffer-Lösung gegeben und bei Zimmertemperatur mit Glashäckchen nach 10 Minuten kontrolliert ob gelartige Gerinnsel auftreten.

Um den Verlauf der Untersuchungen besser zu beurteilen ist eine arithmetrische Reihe des Äthanol-TES-Reagenz von Vorteil, vor allem, wenn eine Patientin schon ab der ersten Untersuchung einen positiven Test aufweist (R. KÖLLER 1974 (21)).

Deshalb ist der Test um die Reagenz-Mengen 0,2; 0,25; 0,35 ml / ml Patientenplasma in Bezug auf die Originalbeschreibung erweitert.

Nach folgendem Schema erfolgte die Bewertung:

- ∅ = klare oder nur gering getrübbte Lösung
ohne Niederschlag = negativ
- + = Auftreten von vereinzelt, zarten, mit einem
Glashäckchen ziehbaren Fädchen und/oder starke
Trübung mit Niederschlag flockigen
Materials = schwach positiv
- ++ = deutliche Ausflockung und gut sichtbare
Fäden = positiv
- +++ = gelartiges Gerinnsel oder dichtes Knäuel von
Einzelfäden = stark positiv

Beurteilt wurde der Äthanol-Test stets von der gleichen Person.

- d) β -Alanin-Fällung: nach STRAUGHN und WAGNER (36)
modifiziert nach GRAEFF und v. HUGO (15)

Prinzip:

Durch Fällung werden Fibrinogen und seine Derivate mit höherem Molekulargewicht von den übrigen Plasmaproteinen getrennt. Damit gewinnt man das Ausgangsmaterial für die anschließende säulenchromatographische und elektrophoretische Untersuchung.

Durchführung:

Zu 2,5 ml Zitratplasma wird 0,557 g β -Alanin, (Nr. 11491, Serva, Heidelberg) im 4°C Eiswasserbad bis zur 2,5 M Endkonzentration hinzugegeben. Die Probe wird vorsichtig 30 Minuten lang durch einen Magnetrührer gemischt.

Nach Zentrifugieren (9000 g/ 20 min. bei 4°C) wird der Überstand, der weniger als 10% fibrinogenverwandtes Material enthält (15) verworfen.

Das Präzipitat wird auf dem Rührer über 20 Minuten in 1 ml Tris-Cl-Zitratpuffer, der 100 KIU (Kallikrein-Inaktivator-Units)-Trasylol pro ml enthält, wiedergelöst (Näheres siehe (15) und (36)). Anschließend wird die Proteinkonzentration spektralphotometrisch quantitativ bestimmt.

e) Agarose-Gel-Filtration

Die Gelfiltration wurde in 4%-iger Agarose, Biogel A 15, sphärische Agarose, 100 - 200 mesh durchgeführt (Bio Rad, Labor München, Deutschland). Die Proben (20 mg - 30 mg Protein) wurden auf einer 2,5 x 80 cm Säule getrennt und mit Tris-Cl-Citrat-Puffer pH 7,6 eluiert. Die Flußgeschwindigkeit war 14 ml in der Stunde. Das Eluat wurde in 3,5 ml Portionen fraktioniert. Fibrinogenbezogenes Antigen wurde in bestimmten Funktionen durch radiale Immundiffusion mittels Partigenplatten (OTDP O 203, Behringwerke Marburg) untersucht. Die Gerinnbarkeit in den einzelnen Fraktionen wurde durch die Thrombinzeit festgestellt.

f) Polyacrylamid-(PAA)-Gel-Elektrophorese

Elektrophoresen wurden in einem wassergekühlten Flachgel-Elektrophoreseapparat der Firma Desaga - Heidelberg - durchgeführt (28).

Ein TES-Glycin-Puffer pH 8,3 wurde als Elektrodenpuffer verwandt (Stammlösung: Glycin 28,8g, TES (= N-Tris hydroxymethyl methyl-2-aminoäthansulfonsäure, MolGew.: 229,24 g) 6 g auf 1.000 ml aqua dest. Zum Gebrauch 10%-ige wässrige Lösung. Eine Konzentration der zu untersuchenden Proteine (20 - 50 µg) erfolgte in einem 3cm langen Sammelgel bei einer Spannung von 200 V über 45 Minuten.

Die Trennung erfolgte in einem 7 cm langem 5%-igem Trenngel unter einer Spannung von 500 V über 75 Minuten. Nach der Trennung wurden die Gele im 1%-igem Amidoschwarz 10 B 1 Stunde gefärbt. Die Entfärbung erfolgte in 0,7%-iger Essigsäure elektrophoretisch bei 200 mA. Die Dokumentation erfolgte photographisch.

Außerdem erfolgte die photometrische Auswertung mit Chromoscan (Joyle and Loebel, England).

g) Intragel-Immunpräzipitation (nach KRIEG (15))

Fibrinogenverwandtes Material wurde nach elektrophoretischer Trennung in den PAA-Gelen durch Intra-Gel-Immunpräzipitation mit monovalenten Anti-Fibrinogenen vom Kaninchen nachgewiesen (Nr. RCHoh Behringwerke, Marburg).

Die Gel-Platte wird in der Plastikschiene mit 2 ml Antiserum und

8 ml TES-Puffer für 48 Stunden geschüttelt. Die meisten Immunpräzipitate sind danach mit bloßem Auge erkennbar.

Zur Entproteinisierung werden die Gele lose in den Plastikrahmen mittels der Dialysemembran (Typ 27/32, Visking) befestigt.

Der Rahmen wird in einem Entfärbebad (Desaga, Heidelberg, Deutschland) welches mit 1 Liter kalter Tri-Glycerin-Puffer-Lösung (Stamm-lösung: 2,5 g tris und 1,0 g Glycin ad 100 ml aqua dest., pH 9,15; Arbeitslösung: 1:1.000, pH 8,8) aufgefüllt ist, gestellt. Die Stromstärke wurde konstant während des ganzen Vorgangs auf 9 mA gehalten. Der sich daraus ergebende Spannungsabfall entstand hauptsächlich durch die ausgewaschenen Proteine. Die Pufferlösung wurde wiederholt gewechselt (bis zu 16 mal) und zwar immer dann, wenn die Spannung auf 100 V oder weniger abfiel. Jedesmal wurde das Gel und die Dialysemembran mit destilliertem Wasser durchspült. Nach 24 - 36 Stunden war das Gel gewöhnlich frei von nichtpräzipitierten Proteinen. Die Präzipitationslinien wurden 1 Stunde lang mit Amidoschwarz 10 B gefärbt und anschließend mit 0,7%-iger Essigsäure bei 200 mA elektrophoretisch entfärbt. Das Ergebnis wird fotografiert.

h) Hämatokritbestimmung: (Nach STRUMIA 1954 (37))

Hier wurde die Routinemethode verwendet. Es wurden stets Doppelbestimmungen durchgeführt. Das Ergebnis wurde mit einem, die Verdünnung bei der Blutabnahme ausgleichenden Faktor (1,111) multipliziert.

i) Blutkörperchensenkungsreaktion (BKS): (nach WESTERGREN 1922 (39))

Hier wurde die in allen Kliniken zur Routine gehörende Methode angewandt.

j) Thrombozytenzählung: (nach FEISSLY und LUDIN 1949)
(beschrieben in Kuhn und Graff 1970 (24))

Die Thrombozyten werden direkt nach Hämolyse des Zitratblutes im Phasenkontrastmikroskop gezählt.

In der Ery-Pipette wird Zitrat-Blut bis zur Markierung 0,5 und

Novocain-Lösung (Novocain 2 g, NaCl 0,2 g, aqua dest. ad 100 ml) bis 1,01 aufgezogen. Die Mischung erfolgt durch vorsichtiges Rotieren der Pipette in der Hand. Anschließend erfolgt die Hämolyse während 20 Minuten bei Zimmertemperatur. Vor dem Füllen der Neubauer-Zählkammer von beiden Seiten werden die ersten Tropfen verworfen. Die Zählkammer liegt dann nochmals für 20 Minuten bei Zimmertemperatur in der feuchten Kammer. Bei Verwendung von Venenblut werden 2 große Quadrate unter dem Phasenkontrastmikroskop gezählt und die gefundene Anzahl Thrombozyten mit dem Faktor 1111 multipliziert. Bei Blutentnahme aus der Fingerbeere ist mit dem Faktor 1.000 zu multiplizieren (24).

Ein Vergleich der Methoden c, e, f und g untereinander anhand ihrer Wertigkeit, Anwendbarkeit und Genauigkeit ist bei (24) (15) und einer eigenen Arbeit über die hier angewandten Testverfahren von R. KÖLLER 1974 (21) anhand von Beispielen genauestens behandelt worden.

C Fragestellung

Es sollte geklärt werden, ob

1. bei Patientinnen mit malignen gynäkologischen Tumoren Fibrinogen-Fibrinomerkomplexe im Plasma nachweisbar sind und ob
2. eine Korrelation zwischen klinischen Parametern und dem Nachweis von LFMK besteht.

D Ergebnisse

a) Überblick über die bei den Patientinnen erhobenen Befunde:

Die Untersuchung, die vor Beginn der Therapie, nach Ablauf der Hälfte und nach 2/3 der Beobachtungs- bzw. Behandlungszeit sowie zum Zeitpunkt der Entlassung und 6 Wochen nach der Entlassung aus der Klinik erfolgte, ergab, daß der Äthanoltest bei den 52 untersuchten Patientinnen in 30 Fällen nach Godal und Abildgaard positiv war.

Tab. 1: Überblick über die bei den Patientinnen erhobenen Befunde

Beobachtungszeit:	ca. 14 Wochen		
Methode:	Äthanoltest (GODAL u. ABILDGAARD)		
	n = 52, Lebensalter 36-81 Jahre		
Äthanoltest positiv (Original-Methode)	30		
Äthanoltest negativ (Original-Methode)	22 davon	schwach pos. neg.	15 7

Bei der Untersuchung der Plasmen der restlichen 22 Patientinnen ergab sich ein "schwach positiver" Test in 15 Fällen, ein negativer Test in 7 Fällen.

Unter Einbeziehung der Patientinnen mit "schwach positivem" Test ergibt sich die Relation 45 : 7 bei gynäkologischen Tumoren vor, während und nach der Therapie. (Bewertet wurden nur Patientinnen, bei denen an mindestens zwei aufeinander folgenden Untersuchungen ein positiver oder schwach positiver Test beobachtet werden konnte). Bei einer Patientin mit einem positiven Äthanoltest wurde durch PAA-Gel-Elektrophorese und Intra-Gel-Immunpräzipitation ein Fibrinderivat mit der relativen elektrophoretischen Beweglichkeit von $0,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V} \times \text{sec}$ (Fibrinogen: $0,43 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V} \times \text{sec}$) beobachtet. Es stellte sich als eine Proteinbande im katodennahen Gelteil dar, das langsamer als Fibrinogen wanderte.

b) Befund bei Patientinnen mit einem positiven und einem negativen Äthanoltest

Die Untersuchung der gepoolten Plasmaproben dieser Patientinnen mit einem positiven Äthanoltest durch Agarose-Gel-Filtration ließ erkennen, daß etwa 7% des Gesamtfibrinogengehaltes in Form einer Vorschulter vor dem Fibrinogenpeak eluiert wurden, die hochmolekulare Fibrinderivate (LFMK) enthielt (Abb. 1).

Bei Patientinnen mit einem negativen Äthanoltest waren diese Veränderungen nicht nachweisbar (Abb. 2).

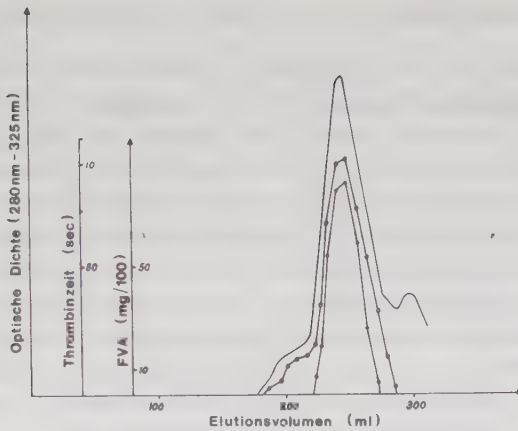


Abb. 1: Agarose-Gel-Filtration eines Plasmapools von Patientinnen mit einem positiven Äthanoltest. Eine deutliche Vorschulter kommt vor dem Fibrinogenpeak zur Darstellung. Thrombinzeiten —●—●—, FV Antigen —○—○—

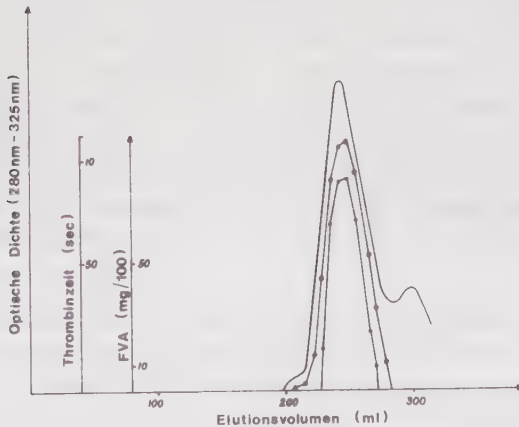


Abb. 2: Agarose-Gel-Filtration eines Plasmapools von Patientinnen mit einem negativen Äthanoltest. Erläuterungen s. Abb. 1

c) Verlaufsbeobachtungen und klinische Schlußfolgerungen

Der Versuch, den positiven Nachweis von löslichen Fibrinmonomerkomplexen mit den klinischen Parametern in Verbindung zu setzen, ergab folgendes: Bei 15 Patientinnen wurde der Äthanoltest in der Beobachtungszeit negativ, bei 7 Patientinnen war er konstant negativ. Von diesen 22 Patientinnen hatten bei der Abschlußuntersuchung 18 einen mit der Palpation erfaßbaren "günstigen" Befund.

Bei 30 Patientinnen wurde der Äthanoltest in der Beobachtungszeit positiv oder war konstant positiv. Von diesen 30 Patientinnen konnten bei der Abschlußuntersuchung 18 als klinisch "günstig" und 12 als klinisch "ungünstig" bezeichnet werden (Tab. 2).

Als χ^2 -Wert ergab sich hier 2,84, der somit größer ist als der kritische χ^2 -Wert 2,71 für α 5%. Es konnte als mit $p < 0,05$ die Nullhypothese zurückgewiesen werden; das heißt, daß ein Zusammenhang zwischen positivem Äthanoltest und schlechter klinischer Prognose besteht.

Tab. 2: Verlaufsbeobachtung bei 52 Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren vor, während und nach der Therapie.
Methode: Äthanoltest

Test wird negativ	15
oder	
ist konstant negativ	7
Gesamt	22
klinisch günstig	18
klinisch ungünstig	4
Test wird positiv	28
oder	
ist konstant positiv	2
Gesamt	30
klinisch günstig	18
klinisch ungünstig	12

E Diskussion

Die vorliegende Untersuchung hat ergeben, daß der Nachweis von löslichen Fibrinmonomerkomplexen bei Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren keine Seltenheit ist. Die biochemische Aufarbeitung des Materials zeigte, daß eine Korrelation zwischen positivem Äthanoltest und dem Nachweis dieser Endprodukte der Gerinnung besteht. Das zur Darstellung gekommene Fibrinderivat mit der relativen elektrophoretischen Beweglichkeit von $0,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ pro V} \times \text{sec}$ dürfte aufgrund von In-vitro-Befunden (18) durch die Wirkung von Thrombin entstanden sein. Aufgrund seiner physikochemischen und immunologischen Eigenschaften (12) kann angenommen werden, daß es in vivo als Fibrinogen-Fibrinmonomerkomplex oder als Dimer auftritt. Dieses 0,28-Derivat bzw. ein positiver Äthanoltest wurden sowohl unter der Geburt bei gesunden Müttern (12, 22) im Sinne einer physiologischen Hyperkoagulabilität als auch neben einem weiteren Derivat bei ausgeprägten Fällen von intravaskulärer Gerinnung beobachtet (13, 14, 15, 19, 23, 24).

Die bekannte Beobachtung, daß ein positiver Äthanoltest Hinweise auf eine bestehende Hyperkoagulabilität in dem hier definierten Sinne ergibt, kann also erneut bestätigt werden. Die Häufigkeit des Vorkommens von LFMK im Plasma von Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren spricht für eine erhöhte Thrombosegefährdung dieser Patientinnen. Wenn auch der Nachweis der beschriebenen Komplexe nicht unbedingt den Schluß zuläßt, daß eine Thrombose besteht oder entsteht, so ist doch unter den besonderen Bedingungen bei einer Patientin mit einem gynäkologischen Tumor eine Thrombosepraedisposition anzunehmen. Die thrombotischen Vorgänge können entstehen im Tumor selbst (7) und im Bereich der dem Tumor benachbarten großen Venen im kleinen Becken (35).

Während die Thrombose der großen Beckenvenen unmittelbar das Problem der Thromboseprophylaxe bei radiologischer Behandlung von gynäkologischen Tumoren berührt und damit von dem Problem der direkten vitalen Gefährdung dieser Patientinnen während der radiologischen Therapie nicht zu trennen ist, haben intratumoröse Zirkulationsstörungen mit Thrombosierung der im Tumor liegenden Gefäße prognostische Relevanz (26).

Die Problematik der Thromboemboliegefährdung von Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren bei radiologischer Behandlung ist hinlänglich bekannt, die prophylaktische Konsequenz ist die Antikoagulantienbehandlung während der Behandlungstage. Die Besserung der Thromboemboliestatistik durch dieses prophylaktische Behandlungsschema mag als weitere Bestätigung der Annahme einer Thrombosegefährdung bei Patientinnen dieser Gruppe gelten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen jedoch, daß die Hyperkoagulabilität als Ausdruck einer gesteigerten Thrombinaktivität, einer beginnenden oder manifesten Thrombose (inner- oder außerhalb des Tumors) offensichtlich mehr oder minder unabhängig von der Therapie bei einer Tumorkranken über lange Zeit besteht.

Unter besonderer Berücksichtigung der neueren Ergebnisse von LUDWIG und RIES (26) und der hier vorgelegten Befunde erscheint es konsequent, die Antikoagulantienprophylaxe bei Patientinnen dieser Gruppe unabhängig von den Episoden der Bestrahlung kontinuierlich auszuführen bis zum Zeitpunkt, zu dem die Hyperkoagulabilität nicht mehr nachweisbar ist.

Wenn auch besonders Kollumkarzinome erst zu einem sehr späten Zeitpunkt zu Fernmetastasen neigen, so wäre schließlich die Forderung der Dauerantikoagulantientherapie während der Phase der Hyperkoagulabilität unter dem Aspekt der Verhinderung von Metastasen zu sehen (6).

Die Steigerung der fibrinolytischen Aktivität sowie die Vorbehandlung mit Heparin konnte die Rate der Metastasierung tierexperimenteller Tumoren statistisch signifikant reduzieren (2). Wenn auch diese Befunde zunächst nicht unmittelbar auf die Humanpathologie übertragbar sind, so kann doch in der Beseitigung der Hyperkoagulabilität mit Antikoagulantien auch unter diesem Gesichtspunkt ein Faktor gesehen werden, der die Prognose günstig beeinflußt. Bisher wurden zur Antikoagulantienprophylaxe Heparin und Cumarine verwandt.

Es bedarf weiterer Untersuchungen, um die Frage zu klären, ob die Möglichkeit besteht, mit Substanzen, wie z.B. Dextran (Inauguraldissertation Tafel, der konkret eine Aussage zur Anwendung von Dextran 60 (Macrodex^R) macht), dessen antithrombotischer Wirkungsmechanismus bekannt ist, ein ebenso günstiger Effekt zu erzielen ist.

F Zusammenfassung

1. Bei 30 von 52 Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren wurden lösliche Fibrinmonomerkomplexe (LFMK) (Äthanoltest, PAA-Gel-Elektrophorese, Agarose-Gel-Filtration) im Plasma nachgewiesen.
2. Verlaufsbeobachtungen ließen Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Nachweis LFMK und klinischem Verlauf erkennen.
3. Diese Veränderungen können als Ausdruck einer Hyperkoagulabilität gewertet werden und unterstützen die Indikationen zur kontinuierlichen Anwendung von Antikoagulantien.

G Literatur

- 1) ABILDGAARD, U. N-terminal analysis during coagulation of purified human fibrinogen, fraction I and plasma.
Scand.J.Clin. and Lab.Invest.
17 : 529 - 536, (1965)

- 2) AGOSTINO, D. Effect of heparin on circulating Walker carcinosarcoma 256 cells.
GROSSI, C.E. J.nat.Cancer Inst.
CLIFTON, E.E. 27 : 17, (1961)

- 3) BENEKE, G. Pathogenese von Thrombosen und Embolie.
In: Thrombose und Embolie
R.Marx und H.A.Thies (Hrsg.)
Thrombos. Diathes.haemorrh. (Stuttg.)
Suppl. 38 : 9, (1970)

- 4) BERGENTZ, S.E. Ethiology, pathogenesis and frequency of thromboembolie disease.
In: Thorén and Bygdeman (Eds.):
Thrombotic diseases with reference to the use of dextrans. Acta Chir.
Scand.Suppl. 387 : 11-14, (1967)

- 5) BONNAR, P.T. Vortrag, gehalten auf dem Symposium Dextran und Thromboseprophylaxe.
Hrsg. F.W. Ahnefeld, (1973). (Im Druck)

- 6) CLIFTON, E.E. Cancer cells in the blood in simulated colon cancer: resectable and unresectable: effect of fibrinolysin and heparin on growth potential.
AGOSTINO, D. Surgery 50 : 395, (1961)

- 7) DEUTSCH, E. Struktur des Blutgerinnsels - Krebs und Blutgerinnung.
FISCHER, M. Sonderdruck aus Fibrinstabilisierenden Faktor, F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, (1968)
LECHNER, K.

- 8) GASTPAR, H. Metastasierung und Blutgerinnung.
In: Deutsch, Fischer und Lechner (Hrsg.)
S. 119-136, F.K.Schattauer Verlag, Stuttgart, (1968)

- 9) GASTPAR, H. Intravitalmikroskopische Beobachtung von Tumorzellen in der Blutbahn.
GRAEBER, F. (Bayer-Film). Arch.Ohr.-Nas.-Kehlk.
HERRMANN, A. 178 : 534, (1961)

- 20) JÜRGENS, J. Venenthrombose - Bewährte Maßnahmen in der Inneren Medizin.
In: Thrombose und Embolie. Hrsg. R. Marx und H.A. Thies, Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttgart), Suppl. 38 : 21, (1970)
- 21) KÖLLER, R. Hyperkoagulabilität und Thrombose. Inaugural-Dissertation (1974)
- 22) KUHN, W.
DERBOLOVSKY, J. Das Auftreten eines positiven Äthanoltestes in der normalen Schwangerschaft und unter der Geburt (in Vorbereitung)
- 23) KUHN, W.
BRÖCKER, G.
GRAEFF, H.
BLEYL, U.
FROST, H. Nachweis von Fibrinmonomeren im Nabelvenenblut.
Klin. Wschr. 49 : 106, (1971)
- 24) KUHN, W.
GRAEFF, H. Gerinnungsstörungen in der Geburtshilfe. Pathophysiologie, Diagnostik, Therapie, G. Thieme, Stuttgart, (1970)
- 25) LASCH, G. Pathophysiologie der Blutgerinnung. (Vortrag) Deutscher Krebsskongreß München vom 14. - 16.2. (1974)
- 26) LUDWIG, H.
RIES, J. Thrombophile Diathese (Mikrothrombose) bei der gynäkologischen Strahlenbehandlung und prophylaktische Konsequenzen. Zur Indikation einer Parallelbehandlung tumorkranker Frauen mit Antikoagulantien. II. Mitteilung: Plattenepithelkarzinom. Grundlagen und Ergebnisse der Fünfjahresheilung. Dieser Band S. 219. In: Med.Welt (1968)
- 27) MARX, R. Über thrombophile und hämorrhagische Diathesen bei Krebs. In Deutsch, Fischer und Lechner (Hrsg.): Krebs und Blutgerinnung. S. 101-117 (F.K.Schattauer Verlag, Stuttgart), (1968)
- 28) MAURER, H.R. Disk-Elektrophorese.
Theorie und Praxis der diskontinuierlichen Polyacrylamidgel-Elektrophorese Walter de Gruyter & Co, Berlin, (1968)
- 29) O'MEARA, R.A.Q. Fibrin formation and tumor growth In Deutsch, Fischer und Lechner (Hrsg.) Krebs und Blutgerinnung. S. 137-141 (F.K. Schattauer Verlag Stuttgart), (1968)

- 30) O'MEARA, R.A.Q. Fibrin formation and the growth of spontaneous cancers in man. Bull.Soc.Int.Chir. 23 : 24, (1964)
- 31) MILLER, J.P. Coagulation disorders in cancer. SANCHEZ'AVALOG, J. Cancer 20: 1452-1465, (1967) STEFANSKI, T. ZUCKERMANN, L.
- 32) NOSSEL, H.L. Radioimmunoassay of human fibrino- YOUNGER, L.R. peptide. A proceedings of the Na- WILNER, G.D. tional Academy of Sciences. PROCUPEZ, T. 68 : 2350 V.P., (1971) CANFIELD, R.E. BUTLER, Jr.
- 33) NIEWIAROWSKI, S. Laboratory identification of intra- GUREWICH, V. vascular coagulation. Journal Lab.Clin. Med.St.Louis Vol. 77, Nr. 4 S. 665-676, (1971)
- 34) RIECHE, K. Blutgerinnungsstörungen bei mensch- lichen Geschwulsterkrankungen. Arch.Geschw. Forschg. 32 : 262-267, (1968)
- 35) RIES, J. Antikoagulantien bei der Strahlen- LUDWIG, H. behandlung weiblicher Genitalkarzi- APPEL, W. nome. Med. Welt 19 (N.F.) 38 : 2042, (1968)
- 36) STRAUGHN, W. III A simple method for preparing fibri- WAGNER, R.H. nogen. Thromb.Diathes.haemorrh. 16 : 198, (1966)
- 37) STRUMIA, M.M. Hematocrit. Americ.J.Clin.Path. 24:1016, (1954)
- 38) THIES, H.A. Diskussionsbeitrag in Deutsch, Fi- scher und Lechner (Hrsg.): Krebs und Blutgerinnung S. 150 - 154 (F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, 1968))
- 39) WESTERGREN, A. Bestimmung der Bks in Korrelation zur Temperatur. Klin. Wochenschr. S. 1359, (1922)
- 40) WESSLER, St. Small doses of heparin and a new con- cept of hypercoagulability. Thrombos.Diathes.haemorrh. 33:81, (1974)
- 41) WOOD, S. jun. Experimental studies of the intravas- cular dissemination of ascitic V₂-car- cinoma cells in the rabbit with spe- cial reference to fibrinogen and fi- brinolytic agents. Bull. Swiss Acad. Med.Sci. 20 : 92, (1964)

Für die Überlassung des Themas möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Walter KUHN und für die Weiterführung desselben Herrn Prof. Dr. med. Henner Graeff aufrichtig danken.

Beide Herren waren sowohl während der Untersuchung als auch bei der Auswertung der Ergebnisse stets bereit, bei auftretenden Problemen mir in vielen Diskussionen mit ihren Ratschlägen beizustehen.

Herrn Prof. Graeff danke ich vor allem für die so angenehme rasche Korrektur.

Herrn Prof. Dr. J. Zander danke ich für die Arbeitsmöglichkeit an seiner Klinik und die freundliche Übernahme der Mitberichterstattung.

Mein besonderer Dank gilt meinem Freund Dr. R. von Hugo für die unermüdliche Hilfe bei der Durchführung und letztendlichen Fassung der Arbeit.

Herrn Dr. rer. nat. R. Hafter sei an dieser Stelle für seine gelegentliche Mithilfe gedacht.

Lebenslauf

Am 16. März 1944 wurde ich in Bergreichenstein (Sudetenland) geboren. Mein Vater Andreas Baumgärtner arbeitete dort als Zollbeamter. Er ist geborener Bayer.

Meine Mutter heißt Maria, sie ist eine geborene Van De Kar und stammt ebenfalls aus Bayern.

Ich habe einen Bruder und eine Schwester.

Ich besuchte 5 Klassen der Knabenvolksschule und 5 Klassen der Oberrealschule in Nördlingen und erwarb nach weiterem einjährigen Schulbesuch 1962 die Reife der 6-klassigen Mittelschule in Donauwörth.

Nach einer anschließenden 3-jährigen Lehrzeit bei Telefonbau und Normalzeit in München machte ich die Gesellenprüfung als Fernmeldemonteur.

Vom September 1965 ab besuchte ich das Münchenkolleg und erwarb (über den II. Bildungsweg) mit dem Abitur im Juni 1968 die Hochschulberechtigung.

Ab Herbst 1968 studierte ich an der Universität München Humanmedizin. Am 6.2.1975 bestand ich die ärztliche Prüfung.

Vom 1.5.75 bis 30.4.76 war ich als Medizinalassistent am Kreis-krankenhaus München-Pasing tätig.

Seit 1.5.1976 arbeite ich an der I. Universitäts-Frauenklinik als Assistenzarzt.

Ich bin seit 1968 verheiratet und habe einen Sohn und eine Tochter.

Olching bei München

